

51457-2002100-10361

DELPHION



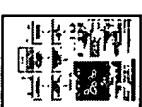
RESEARCH

PRODUCTS

INSIDE DELPHION

[Log Out](#) [Web Files](#) [Saved Searches](#)[My Account](#)[Search: Quick/Number](#) [Boolean](#) [Advanced](#) [Derwent](#) [Help](#)

The Delphion Integrated View: INPADOC Record

Get Now: ☒ PDF | [File History](#) | [Other choices](#)Tools: [Add to Work File:](#) [Create new Work File](#) [Add](#)View: [Jump to:](#) [Top](#) [Go to:](#) [Derwent](#)☒ [Email this to a friend](#)**Title:** CN1290752A: COMPOUND MICRO PATH ARRAY CHIP AND ITS PREPARING METHOD**Derwent Title:** Compound micropath array chip and its preparation method [Derwent Record]**Country:** CN China**Kind:** A Unexamined APPLIC. open to Public inspection I**Inventor:** ZUHHONG LU; China
NONGYUE HE; China
JIJUN ZHU; ChinaHigh
Resolution**Assignee:** LU ZUHHONG China
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)**Published / Filed:** 2001-04-11 / 2000-10-10**Application Number:** CN20002000119003**IPC Code:** IPC-7: C12Q 1/00; G01N 33/00;**ECLA Code:** None**Priority Number:** 2000-10-10 CN20002000119003**Abstract:**

The present invention features that after miniature via holes are machined in a solid base plate in certain thickness, or an adhered capillary bundle is formed and specific compound molecules, including organism molecules, are synthesized or assembled on the surface of the holes chemically or physically, the micropath plate or bar material is cut into thin sheets as the corresponding compound micropath array chip.

Family:

PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1290752A	2001-04-11	2000-10-10	COMPOUND MICRO PATH ARRAY CHIP AND ITS PREPARING METHOD
1 family members shown above				

Other Abstract Info:

None



Nominate this for the Gallery...



THOMSON

Copyright © 1997-2006 The Thomson Corporation
[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact Us](#) | [Help](#)

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00119003.2

[43] 公开日 2001 年 4 月 11 日

[11] 公开号 CN 1290752A

[22] 申请日 2000.10.10 [21] 申请号 00119003.2
[71] 申请人 陆祖宏
地址 210096 江苏南京四牌楼 2 号东南大学生物
医学工程系
共同申请人 何农跃
[72] 发明人 陆祖宏 何农跃 朱纪军 李 炯
刘正春 张春秀 王 宏

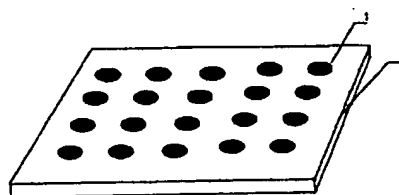
[74] 专利代理机构 江苏省专利事务所
代理人 奚胜元

权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图页数 4 页

[54] 发明名称 化合物微通道阵列芯片及其制备方法

[57] 摘要

本说明涉及的是一种微通道阵列芯片及其制备方法,尤其为化合物微通道阵列芯片。其特征在于(a)在一块具有一定厚度的固体基板上排列了若干加工得到的微小通孔,或者若干毛细管由粘接材料粘合成一束;(b)在(a)中每个通孔内表面化学和物理地合成或组装有特定的化学分子,包括生物分子。(c)将具有(a)、(b)特征的微通道块体或棒状材料切割成薄片,即得到相应的化合物微通道芯片。



ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 化合物微管道阵列芯片, 其特征在于(a)在一块具有一定厚度的固体基板上排列了若干微小通孔;(b)在每个通孔内含有特定的化学分子, 包括生物分子。
2. 化合物微管道阵列芯片制备方法, 其特征在于: 该制备方法包括以下内容:
 - (1) 微管道阵列芯片的制备,
 - A、微管道阵列芯片的制备方式一:
 - a) 采用制模或注塑方法或在一块体材料上直接打孔的方法, 制备一内部分布有平行排列的微小空心管道的块体材料, 微小空心管道内部是全空的, 或者是网状多孔填充物及其它微粒;
 - b) 应用快速切片机械, 将块体材料沿与微小管道的方向以一定的角度切成平行的薄片, 即制得所需的微通道阵列芯片;
 - B、微通道阵列芯片的制备方式二:
 - a) 采用空心微管道, 用一个注模把上述的管道拉紧并排布成二维阵列; 所用微管内外可进一步用化学和物理方法进行镀层修饰和分子组装修饰, 如可在内外表面进一步镀上光学反射膜;
 - b) 用高分子材料、或融化的无机材料注入模具中, 使管道阵列固化, 制备成内部分布有大量空心微管阵列的块体材料; 或直接将这些空心微管粘合成一个由微管组成的阵列。
 - c) 切片: 应用快速切片机械, 将块体材料沿与微小管道的方向以一定的角度切成平行的薄片, 即制得所需的微通道阵列芯片;
 - (2) 固定化合物的过程
 - A、固定化合物的过程形式一:

在上述权利要求 2 (1) A(a) 和 B(b) 中制备的内部分布有平行排列的微小空心管道的块体材料中, 分别在每一个微小空心管道内组装特定的化合物或生物分子;
 - B、固定化合物的过程形式二:

分别在上述权利要求 2 (1) B (a) 中采用的每一根微小空心微管道内组装特定的化合物或生物分子;
 - C、固定化合物的过程形式三:

分别在上述权利要求 2 (1) A(b) 和 B(c) 中制得的微管道阵列芯片上的每个通道内, 组装特定的化合物或生物分子;
 - (3) 化合物的固定方式
 - A. 化合物的固定方式一:

通过物理固定的方式, 将特定的化合物或生物分子固定在微小管道内;
 - B. 化合物的固定方式二:

通过化学键的方式, 将特定的化合物或生物分子固定在微小管道的内壁;
 - C. 化合物的固定方式三:

通过组合化学的方式, 在微小管道的内壁上直接合成特定的化合物或生物物质;
 - (4) 将上述微管道阵列芯片的制备形式 2(1) 中的任一种, 与 2(2) 固定化合物的

- 2**

化合物微通道阵列芯片及其制备方法

本发明涉及的是一种微通道阵列芯片及其制备方法,尤其为化合物微通道阵列芯片。其中,芯片上每一个微通道中含有特定的化学物质或生物物质。这里,化合物是指生物学意义的有机分子和高分子,核酸,蛋白等生物大分子及其混合物。

化合物微通道阵列芯片是一种新的生物芯片。生物芯片主要指在固体芯片中组装的生物活性物质(包括核酸、蛋白质、细胞及微小组织等)构成的微阵列,以实现化合物(包括药物)、蛋白质、核酸、细胞以及其它生物组分的准确、快速、大信息量的筛选或检测。生物芯片的主要特点包括:(1)可在一个较小的固体芯片内组装大量的($10^2 \sim 10^6$ 种)生物活性物质,获取的信息量大,效率高,消耗的生物试剂少,可节约大量的试剂费用,成本低;(2)采用了平面和立体微细加工技术,可以通过提高集成度,降低单个芯片的制备成本,实现大批量生产;(3)可把生物样品的预处理,提取,扩增,反应,以及信息检测相集成,制备成微型、全自动化、无污染、可用于微量试样检测的高度集成的智能化生物芯片。

生物芯片在生物检测、医学检验和疾病诊断、药物筛选和基因序列分析上有着极其重要的意义。传统生物检测所采用的方法包含一系列繁杂的步骤,尤其在大规模生物化合物检测和筛选方面费时、费力、成本高,不能满足需要。在对传统方法进行改进的过程中,以基因芯片为代表的生物芯片技术应运而生。这一技术的成熟和应用将为新药的开发和鉴定、食品和环境等生命科学相关领域带来一场革命,为生物信息的获取及分析提供强有力的手段。

多孔检测板(如 96 孔板)是现行普遍使用的一种用于医药、生化检测和筛选的常规器具。分别把不同蛋白质、核酸探针、细胞株、或生物组织放置或固定于不同的孔洞之中,通过加入不同的化学物,或化合物组合,或生化试剂,或被检测的生物样品,观察不同化学/生物物质的反应,进行快速并行的生化分析、临床检验、或药物筛选。其上的 96 个反应池彼此隔离,根据用户需要可任意选用反应池的个数。这是现行普遍使用的一种用于生化研究和开发的方法。为了提高药物筛选的效率,人们通过微加工技术,在硅、玻璃、塑料等基片上制造密度更高、孔径更小的检测板,把不同的化合物、或生物分子、或生物组织固化于孔洞之中,并在检测孔洞中制备电极等微型检测探头。但这种方法仍需要逐个地把不同化合物、生物分子等分配到各个孔洞之中,不能批量化和标准化制备,制备过程仍较复杂,成本较高,也不便于同时快速连续操作,更不利于同时对试样中多组分的连续快速检测。

我们不久以前针对目前常规生物芯片和器具存在的不足之处,提出了一种细胞微阵列芯片,该芯片首先制备含有细胞的平行微型孔洞阵列的块体材料,然后沿与孔洞垂直方向上切成薄片。该方法能够实现细胞芯片的批量化制备,可进行多信息量和多参数的检测;小型化、成本低、无污染。

本发明目的在上述细胞微阵列芯片基础上,提出一种新的基于微管道阵列的化合物芯片及其制备方法。该化合物微通道阵列芯片可大大地增强化合物分子的荧光激发强度,提高检测的灵敏度和特异性,可标准化和批量化生产,制备成本低,可对大量化合物分子进行多项生物活性指标连续快速分析,试样和试剂消耗量小,操作简易可行。

化合物微管道阵列芯片，其特征在于(a)在一块具有一定厚度的固体基板上排列了若干微小通孔；(b)在每个通孔内含有特定的化学分子(包括生物分子)。

化合物微管道阵列芯片制备方法，其特征在于：该制备方法包括以下内容：

(1) 微管道阵列芯片的制备，

A、微管道阵列芯片的制备方式一，

- a) 采用制模或注塑方法或在一块体材料上直接打孔的方法，制备一内部分布有平行排列的微小空心管道的块体材料，微小空心管道内部可以是全空的，也可以是网状多孔填充物或其它微粒；
- b) 应用快速切片机械，将块体材料沿与微小管道的方向以一定的角度切成平行的薄片，即制得所需的微通道阵列芯片；

B、微通道阵列芯片的制备方式二，

- a) 采用空心微管道如微小玻璃管、金属管、高分子管等中的一种或组合，用一个注模把上述的管道拉紧并排布成二维阵列；所用微管内外表面可进一步用化学和物理方法进行镀层修饰和分子组装修饰。如可以进一步镀上光学反射膜，以隔离粘合微管的粘合剂可能产生的荧光信号对检测分析的影响。金属镀层的另一作用是增强微管内用于检测的荧光信号，通常可增强10至100倍；
- b) 用高分子材料、或融化的无机材料注入模具中，使管道阵列固化，制备成内部分布有大量空心微管阵列的块体材料；或直接将这些空心微管粘合成一个由微管组成的阵列。由于用于注模或粘合的材料可能会在检测过程中产生荧光而干扰检测分析，可在这些材料中添加某些填料(如碳黑等)以消除这种荧光干扰。
- c) 切片：应用快速切片机械，将块体材料沿与微小管道的方向以一定的角度切成平行的薄片，即制得所需的微通道阵列芯片；

(2) 固定化合物的过程

A、固定化合物的过程形式一：

在上述权利要求2(1)A(a)和B(b)中制备的内部分布有平行排列的微小空心管道的块体材料中，分别在每一个微小空心管道内组装特定的化合物或生物分子；

B、固定化合物的过程形式二：

分别在上述权利要求2(1)B(a)中采用的每一根微小空心微管道如微小玻璃管、金属管、高分子管等中的一种或组合的内壁组装特定的化合物或生物分子；

C、固定化合物的过程形式三：

分别在上述权利要求2(1)A(b)和B(c)中制得的微管道阵列芯片上的每个通道内，组装特定的化合物或生物分子；

(3) 化合物的固定方式

A. 化合物的固定方式一：

通过物理固定的方式，将特定的化合物或生物分子固定在微小管道内；

B. 化合物的固定方式二：

通过化学键的方式，将特定的化合物或生物分子固定在微小管道的内壁；

C. 化合物的固定方式三：

通过组合化学的方式，在微小管道的内壁上直接合成特定的化合物或生

物物质；

(4) 将上述微管道阵列芯片的制备形式 2(1) 中的任一种，与上述 2(2) 固定化合物的过程形式中的任一种以及 2(3) 化合物的固定方式中的任一种进行组合，就能制备出化合物微通道阵列芯片。

为便于进一步的实际应用，本发明所提出的化合物微通道阵列芯片将进一步进行封装。化合物微通道阵列芯片封装于盖板和底板之间。封装盖板形式之一是该封装盖板面对芯片的一面上布有微流体沟槽，该微流体沟槽正好将芯片上的微小孔连通起来，并设置一对液体的输入和输出端口；封装盖板形式之二在硬质板材（如玻璃、塑料等）上打若干通孔，通孔的数目与芯片上微小孔的数目相等，且各通孔的位置与上微小孔的位置能一一对应，并在此盖板上覆盖保护膜。底板形式之一是采用硬质材料制成，其大小与芯片大小相应；底板形式之二是采用硬质材料制成，其大小与芯片大小相应，且在底板上设置有微电极阵列，微电极阵列与芯片阵列一一对应；底板形式之三也是采用硬质材料制成，其大小与芯片大小相应，且在底板上设置传感器阵列（声传感器或热传感器或化学传感器阵列），并使传感器阵列与芯片阵列一一对应。

为实现上述目的，本发明给出的化合物微通道阵列芯片的封装方法是将上述芯片形式中的任一种与盖板形式中的任一种以及底板形式中的任一种进行组合封装成为一体，就能得到某种化合物微通道阵列芯片的结构形式，通过三种部件的各种组合封装即得到不同结构形式的化合物微通道阵列芯片，以满足不同检测方法（如光学方法、电化学方法、传感器方法）检测的需要。

本发明优点是所提出的化合物微阵列芯片可在同一块芯片上同时进行大量的基因和蛋白等化学信息的定性或定量分析，所得结果可以用光、电、热、声、或化学等方法进行检测。例如可用普遍光学显微镜、激光共聚焦显微镜、CCD 观察或表面激元共振（SPR），表面干涉反射（RIFS）等光学、电流和电位等电化学技术，或者热敏电阻、石英晶振等方法来检测。从而大大提高工作效率，减少试剂用量，真正做到快速、适时、准确、自动化和无污染的检测。特别是应用的微小玻璃毛细管构成的微通道，玻璃管形成的光波导管，在微小玻璃毛细管内壁上固定的化合物分子可直接受其表面消逝波的激发，大大地增强了其荧光发射强度。微小玻璃毛细管内壁镀有反射层，以隔离粘合微管的粘合剂可能产生的荧光信号对检测分析的影响，并有利于降低激发光的反射，和分子发射荧光的收集，大大提高检测的灵敏度。另外，各反应管道中所进行的微反应可以通过电、光、声、或热等物理方法进行加速和调控，例如，可以在各微孔通道内分别设置微电极，通过调控电场来控制通道上的微反应；通过控制电流的大小和方向，使所需的反应物快速聚集或分散，或改变其它物理化学环境，提高检测灵敏度或缩短检测时间。它可用于化合物及其组合、生物分子或药物的高通量筛选，传统药物的现代化研究，以及基因组或 cDNA 文库的筛选，新基因的发现和基因功能的研究，蛋白质组学的研究等。本发明将大大加快新药开发的速度，减少开发成本，提高效率和准确性，而且对传统药物（包括中药）的现代化具有重要的价值。

下面结合附图对本发明的具体实施方式作进一步详细的描述：

图 1 本发明提出的化合物微通道阵列芯片示意图。

图 2 本发明提出的化合物微通道阵列芯片封装盖板之一示意图。

图 3 本发明提出的封装后的微流体型化合物微通道阵列芯片示意图。

图 4 本发明提出的化合物微通道阵列芯片封装盖板之二示意图。

图 5 本发明提出的封装后的多孔型化合物微通道阵列芯片示意图。

图 6 本发明提出的内壁固定有大量化合物管道阵列的块体材料示意图。

图 7 本发明提出的制备化合物微通道阵列芯片的方法示意图。

图 8 本发明提出的化合物微通道阵列芯片底板示意图。

以上附图中，图 1 为本发明提出的一种化合物微通道阵列芯片的示意图：它是由许多与芯片平面成一定角度的微小通孔 1 密集排列的化合物微通道阵列芯片 2；芯片上的小通孔内中分别固定不同的化合物。

图 2 为本发明提出的一种化合物微通道阵列芯片封装盖板：其表面可有微流体通道的盖板 3，该盖板上设置有微流体沟槽 4，当盖板以有微流体沟槽一面盖在与图 1 对应的化合物微通道阵列芯片上时，盖板上的微流体沟槽正好将化合物微通道阵列芯片上的微通孔联起来，使化合物微通道阵列芯片上的化合物微通孔位点通过微流体沟槽通道连结成一封闭的具有微流体输入端口 5 和输出端口 6 的化合物微通道阵列芯片。

图 3 为与图 2 对应的微流体型化合物微通道阵列芯片，被检测的液体可以通过微流体管道的输入口 5 直接进入不同的化合物微通道中，其中 7 为底板。

图 4 为本发明提出的另外一种化合物微通道阵列芯片封装盖板，盖板上具有与图 1 对应的化合物微通道阵列芯片上的微孔相对应的注液通孔，其中 8 为化合物微通道阵列芯片通孔，9 为封装多孔型盖板。

图 5 为与图 4 对应的多孔型化合物微通道阵列芯片，被检测的液体可以通过注液通孔分别直接进入不同的化合物微通道中，其中 7 为底板，2 为化合物微通道阵列芯片，9 为封装多孔型盖板，10 为保护膜。

图 6 为本发明提出的内部分布有大量平行细小空心管道 11 的块体材料 12，在各个微小管道内固定了不同的化合物分子。

图 7 为本发明提出的制备化合物微通道阵列芯片的方法：通过快速切片机将与图 6 对应的块体材料 12 沿垂直于微小管道的方向上切成薄片，即制成了化合物微通道阵列芯片的，其中 13 为刀具。

图 8 为本发明提出的设置有微电极阵列或传感器阵列 14 的化合物微通道阵列芯片底板。

以下结合几个具体实施例进一步说明本发明：

实施例一：化合物微通道阵列芯片的制备。

1. 化合物微通道阵列芯片（一）的制备：

- 1) 首先利用机械加工方法（如线切割加工，切削加工等工艺）或 LIGA 工艺，体硅加工工艺，注塑加工工艺等或应用其他方法制备一个具有微细柱状阵列的模具，每个柱状体的尺寸为 $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m}$ 。
- 2) 应用注塑工艺将一种硅橡胶的原料注入金属模具中，脱模后形成一内部分布有大量平行密集排列的微小空心管道的块体硅橡胶材料。
- 3) 应用微量点样方法或其它微量分配方法，将不同化合物如核酸探针，蛋白质等引入不同的孔道，在适当的条件这些分子被固定在管道壁上。（如附图 6 所示）
- 4) 应用快速切片机械，将块体材料沿一定的角度把块体硅橡胶材料切成薄片，（如附图 7 所示）即制得所需的化合物微通道阵列芯片。（如附图 1 所示）

2. 化合物微通道阵列芯片（二）的制备：

- 1) 首先利用若干清洗干净的玻璃毛细管，在不同的玻璃毛细管中引入不同化合物如核酸探针，蛋白质等。

- 2) 用一个注模把不同玻璃毛细管拉紧并排布成二维阵列,用高分子材料注入模具中,制备成内部分布有大量玻璃毛细管道阵列的块体材料。
- 3) 应用快速切片机械,将块体材料沿与微小管道成一定角度的方向切成薄片,即制得所需的芯片。

3. 封装盖板(一)的制备:

采用机械钻孔、激光打孔、化学腐蚀等加工工艺在硬质板材面向芯片的一侧加工成有供液体流动的微流体沟槽,并设置一对液体的输入和输出端口。(如附图2所示)

4. 封装盖板(二)的制备:

采用机械钻孔、激光打孔、化学腐蚀等加工工艺在硬质板材(如玻璃、塑料等)上打若干通孔,通孔的数目与芯片上微小孔的数目相等,且各通孔的位置与上微小孔的位置能一一对应,并在此盖板上覆盖保护膜。

5. 底板(一)的制备:

采用硬质材料制成大小与芯片大小相应的底板。

6. 底板(二)的制备:

采用硬质材料制成大小与芯片大小相应的底板,并在底板上设置有微电极阵列,微电极阵列与芯片阵列一一对应。

7. 底板(三)的制备:

采用硬质材料制成大小与芯片大小相应的底板,并在底板上设置传感器阵列(声传感器或热传感器或化学传感器阵列),并使传感器阵列与芯片阵列一一对应。

8. 封装:

将上述芯片形式中的任一种与盖板形式中的任一种以及底板形式中的任一种进行组合封装成为一体,就能得到某种化合物微通道阵列芯片的结构形式,通过三种部件的各种组合封装成不同结构形式的,尺寸为 $2\text{cm} \times 2\text{cm}$ 的细胞微阵列芯片,以满足不同检测方法(如光学方法、电化学方法、传感器方法)检测的需要。

实施例二: 基因组 DNA 或 cDNA 文库芯片制备

在管道内不同大小基因或 cDNA 片段引入不同的孔道,使之固定,将该块体材料沿与微小管道成一定角度的方向切成薄片;最后用布有微体沟槽通道或多孔的硬质板材进行封装,构成基因组 DNA 或 cDNA 文库芯片。

应用快速切片机械,将块体材料沿一定的角度把块体硅橡胶材料切成薄片,即制得所需的化合物微通道阵列芯片。

实施例三: 原位合成的寡核苷酸探针微通道阵列芯片

多管道块体玻璃毛细管硅橡胶材料的制备方法同实施例一。

A. 微流体盖板的制备。将一个固体平板加工成表面具有凹凸结构的模板。然后将一小盒放在模板上,模板与小盒边缘的位置进行校准。小盒的下底是空的。当该小盒放在模板上时,模板位于小盒内的底部,在小盒的上部设有注入孔,从该孔中注入硅橡胶(PDMS)原料,则 PDMS 以模板为底充满小盒。待 PDMS 固化后,将小盒连同里面的 PDMS 从模板上小心地取下,则 PDMS 复制了原模板上的凹凸图案,此时微流体盖板即制成。用同样的方法,制备另一块对应的微流体盖板。

B. 在多管道块体玻璃毛细管硅橡胶材料中的上玻璃毛细管内制备寡核苷酸

探针阵列。将玻璃毛细管内壁清洗、干燥后,分别放入 APTS(氨基丙基三乙氧基硅烷)的苯溶液中反应2小时,在苯中漂洗后再放入琥珀酸的苯溶液中反应1小时,从而在玻璃表面形成羟基。将一对微流体盖板分别固定于多管道块体玻璃毛细管硅橡胶材料,使其凹凸结构与块体材料的毛细管分布相对应。把其 5'-OH 已用二对甲氧三苯甲基(DMT)保护的核苷酸例如 dAdp 和四唑(催化剂)的无水乙醇溶液,通过微流体盖板注入到多管道块体玻璃毛细管中,使其连接在玻璃表面。再通过注入苯硫酚(或三氯乙酸)的乙醇溶液脱去基片上核苷酸 5'-OH 上的保护剂 DMT,将 5'-OH 暴露。收集脱去的 DMT 液,调节至一定的体积,以 DMT-C1 单体为标准液于 495nm 处检测 DMT 和光吸收值(OD 值),根据相邻二次 OD 值的比值,可以获得该层的合成产率。再更换不同的微流体盖板和不同的单核苷酸(如 dGdp, dCdp, dTdp),在不同管道内重复上述过程,可键合上第二、三、……层核苷酸分子。合成至二十层(即 20 个碱基长度的寡核苷酸)后,用 30% 氨水处理基片,以去除碱基及磷酸上的保护基团,形成寡核苷酸阵列。将芯片用水冲净,干燥封装保存。至此,制备完毕。

应用快速切片机械,将块体材料沿一定的角度把块体硅橡胶材料切成薄片,即制得所需的化合物微通道阵列芯片。

实施例四:原位合成的肽核酸探针微通道阵列芯片

肽核酸(peptide nucleic acid, PNA)是一种带有碱基的寡聚 N-2 氨基乙基甘氨酸(N-(2-aminoethyl glycine)),是具有核苷酸性质的多肽糊似物。PNA 可以与序列互补的 DNA、RNA 以及 PNA 杂交,并且其杂交具有高的热稳定性和对错配的高灵敏性。在一定的条件下,可以识别单个碱基的错配。因此,利用 PNA 序列制备高密度基因阵列芯片,可以大大提高基因芯片的杂交准确性和灵敏度,具有十分重要的应用前景。

A. 微流体盖板的制备同实施例三 A

B. 制备四种分别含有胸腺嘧啶,胞嘧啶,腺嘌呤和鸟嘌呤四种碱基可用于 PNA 序列合成的单体,即 N-2 苄丁氧羰基氨基乙基-N-胸腺嘧啶-1-乙酰甘氨酸(Gly-T), N-2 苄丁氧羰基氨基乙基-N-胞嘧啶-1-乙酰甘氨酸(Gly-C), N-2 苄丁氧羰基氨基乙基-N-腺嘌呤-1-乙酰甘氨酸(Gly-A)和 N-2 苄丁氧羰基氨基乙基-N-鸟嘌呤-1-乙酰甘氨酸(Gly-G)。

C. 在多管道块体玻璃毛细管硅橡胶材料中的上玻璃毛细管内制备寡肽核酸探针阵列。将玻璃毛细管内壁清洗、干燥后,分别放入 APTS(氨基丙基三乙氧基硅烷)的苯溶液中反应2小时,在玻璃表面形成胺基。将一对微流体盖板分别固定于多管道块体玻璃毛细管硅橡胶材料,使其凹凸结构与块体材料的毛细管分布相对应。把含有碱基的 PNA 合成单体,例如 Gly-A,及其五氟苯酯的溶液,通过微流体盖板注入到多管道块体玻璃毛细管中,使其连接在玻璃表面。当第一层合成完毕后,用水合茚三酮法测定第一层的耦合率。再更换不同的微流体盖板和注入含不同碱基的 PNA 单体如 Gly-T, Gly-G, Gly-C 和五氟苯酯混合溶液,重复上述过程,形成第二、三、……层 PNA 单体分子。合成至二十层(即二十个碱基长度的寡聚肽链)后,用 30% NaOH 水溶液处理基片,以去除碱基及磷酸上的保护基团。将芯片用水冲净,干燥封装保存。至此,原位合成的肽核酸探针微通道阵列芯片制备完毕。

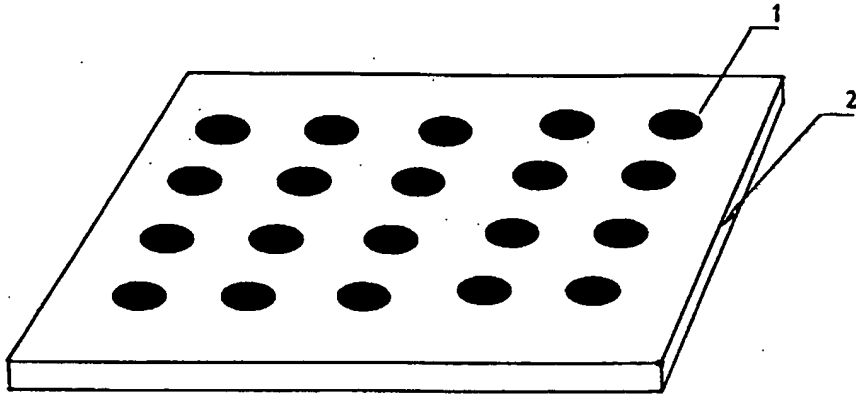


图 1

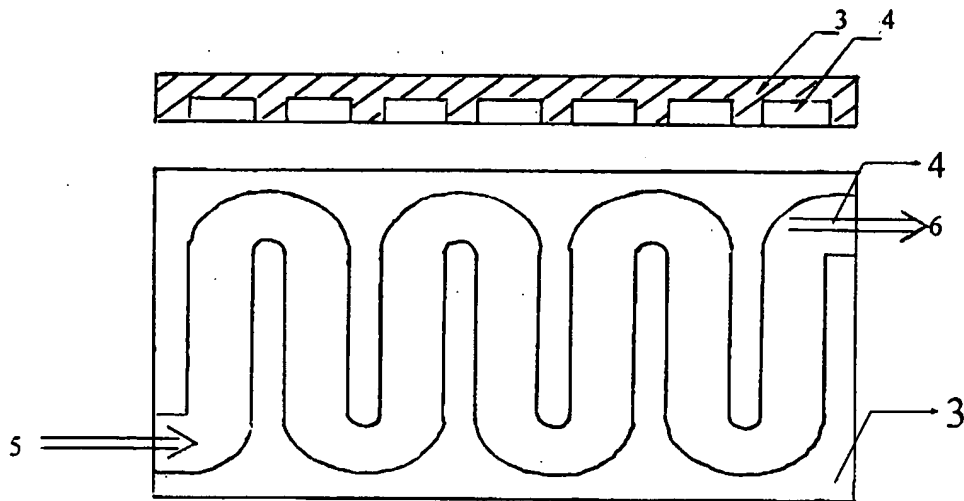


图 2

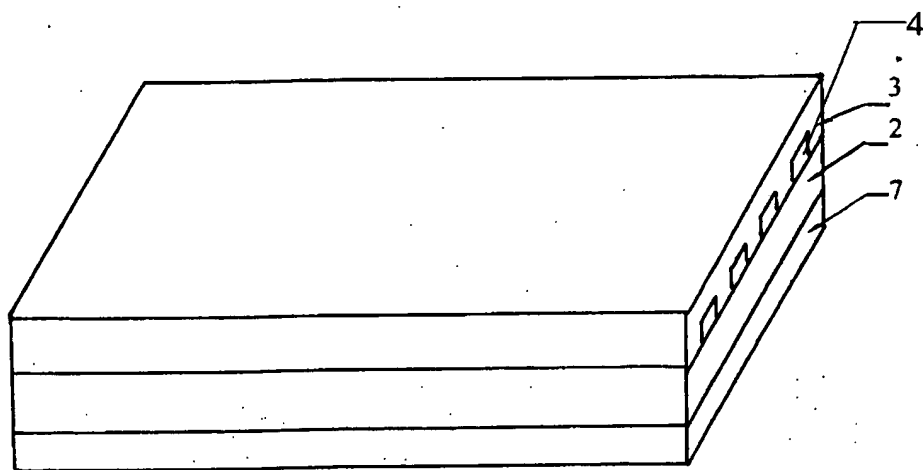


图 3

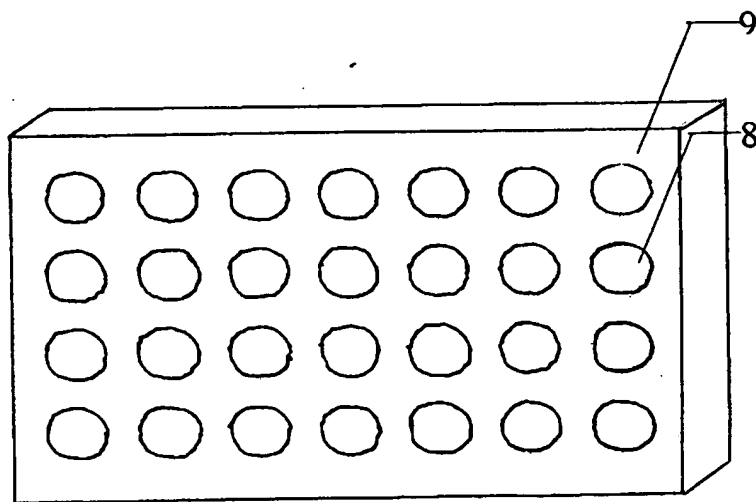


图 4

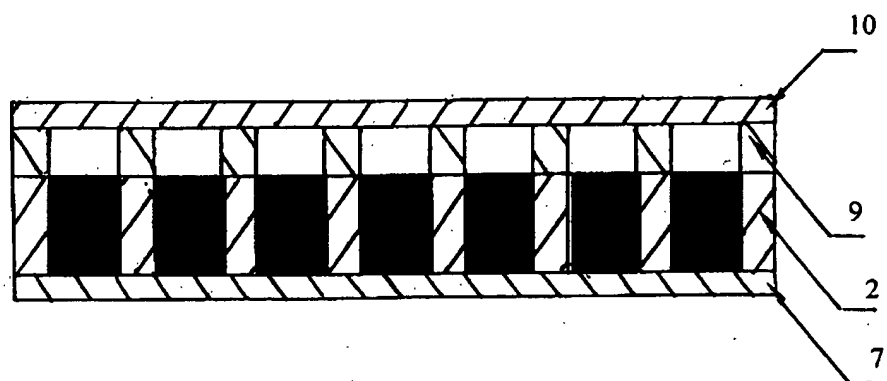


图 5

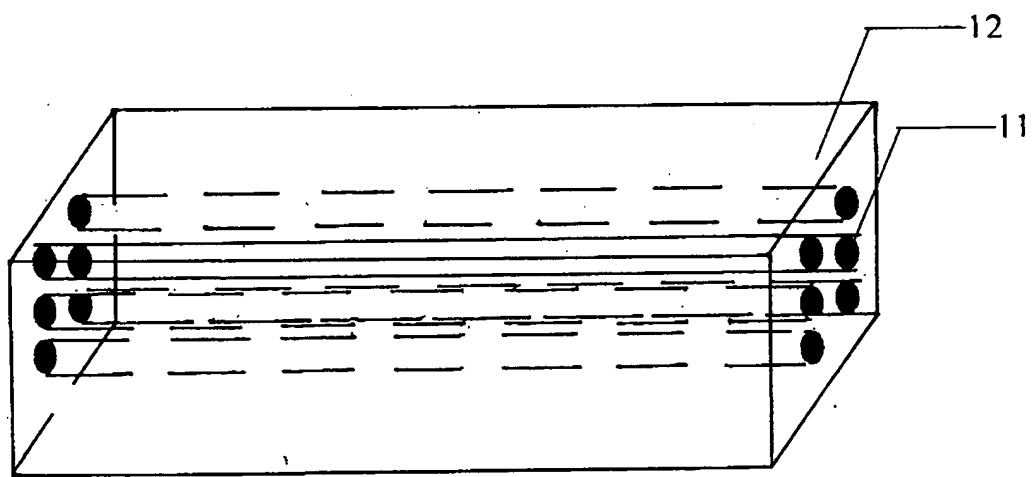


图 6

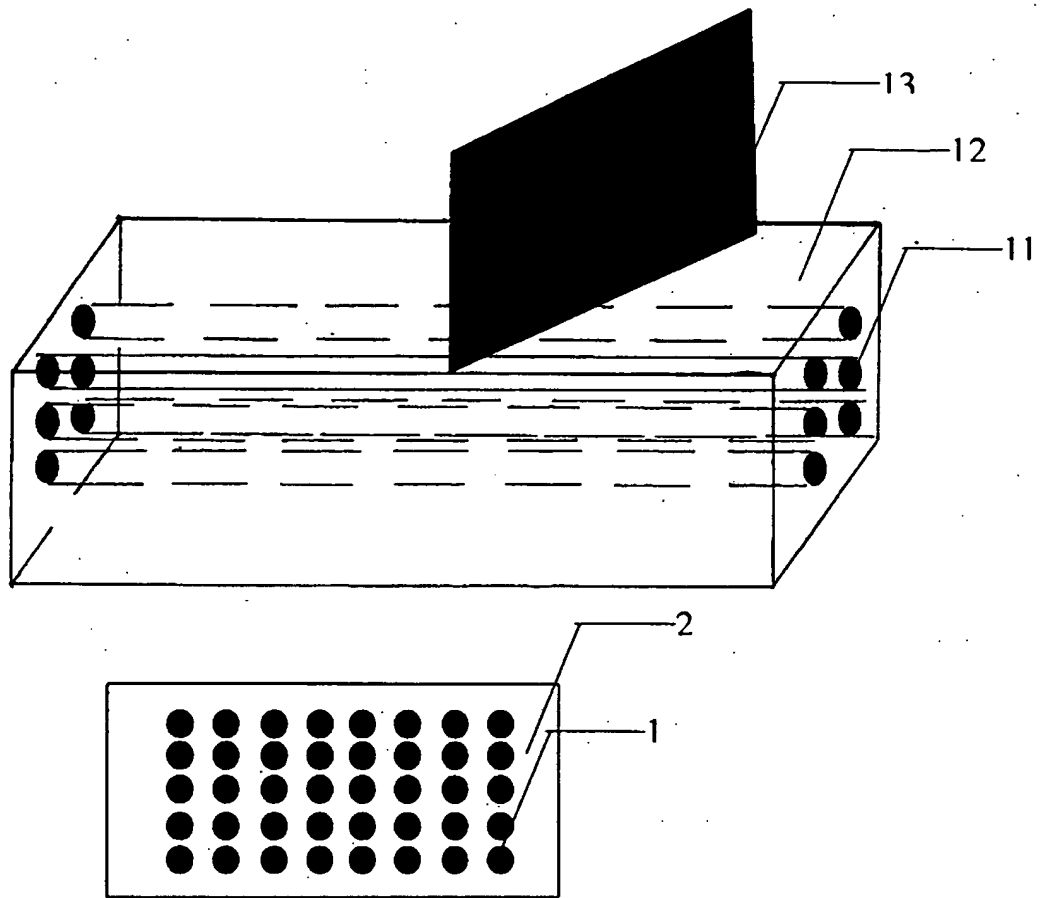


图 7

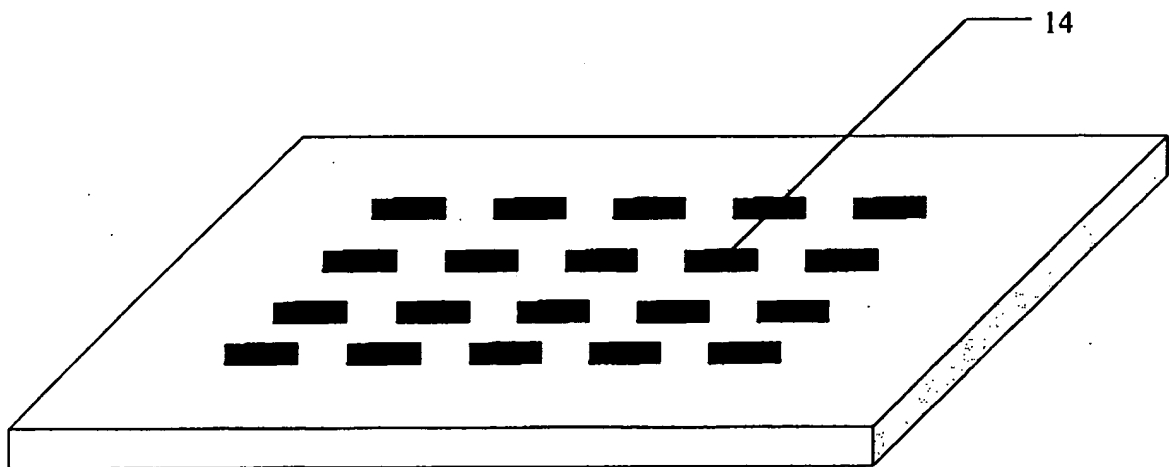


图 8

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.